بررسی اثر روغن جوانه گندم بر پارامترهای اسپرمی، هورمون تستوسترون و پراکسیداسیون لیپیدی به‌دنبال درمان با کاربامازپین در موش‌های نر صرعی شده با پنتیلن تترازول

- **ویدا رحیم‌پور***: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، صندوق‌پستی: ۱۶۵
- **وحید نجاتی**: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، صندوق‌پستی: ۱۶۵
- **غلامرضا نجفی**: گروه آناتومی و جنین شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، صندوق‌پستی: ۱۶۵
- **شیوا خضری**: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، صندوق‌پستی: ۱۶۵

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۳

چکیده

صرع یک اختلال نورولوژیکی می‌باشد که با اختلال در فعالیت الکتریکی مغز ظاهر می‌گردد. کاربامازپین یک داروی ضدصرع است که در دراز مدت باعث افزایش استرس اکسیداتیو و ایجاد اختلال در سیستم تولیدمثلی می‌شود. هدف این مقاله بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی روغن‌جوانه‌گندم بر روی تستوسترون، پارامترهای اسپرمی و پراکسیداسیون لیپیدی موش‌های صرعی تحت درمان با کاربامازپین می‌باشد. در این مطالعه ۴۸ موش سوری نر بالغ نژاد NMRI به‌طور تصادفی به ٦ گروه ۸تایی تقسیم شدند. شامل: گروه شاهد، گروه صرعی شده با پنتیلن‌تترازول با دوز۴۰ (تزریق داخل صفاقی)، گروه صرعی شده با پنتیلن‌تترازول با دوز۴۰ + کاربامازپین با دوز۳۰ (گاواژ)، گروه صرعی شده با پنتیلن‌تترازول با دوز۴۰ + کاربامازپین با دوز ۱۸۰ (گاواژ)، گروه صرعی شده با پنتیلن‌تترازول با دوز۴۰+ کاربامازپین با دوز۳۰ +روغن‌جوانه‌گندم با تک دوز ۵۰۰ (گاواژ) و گروه صرعی شده با پنتیلن‌تترازول با دوز۴۰ + کاربامازپین با دوز۱۸۰+ روغن جوانه‌گندم با تک دوز ۵۰۰ (واحد دوزها به‌صورت گرم بر کیلوگرم وزن بدن می‌باشد). در پایان دوره تیمار (۴۲ روز) میزان تستوسترون سرم، پراکسیداسیون لیپیدی و پارامترهای اسپرمی اندازه‌گیری شد. داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی در نرم‌افزار SPSS۲۰ تحلیل شدند و سطح معنی دار (P<۰/۰۵) در نظر گرفته شد. در این بررسی میزان تستوسترون و پارامترهای اسپرمی در گروه‌های دریافت‌کننده کاربامازپین نسبت به گروه شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۵). هم‌چنین میزان پراکسیداسیون لیپیدی در گروه‌های مذکور افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۵). استفاده از روغن‌جوانه‌گندم باعث افزایش تستوسترون، پارامترهای اسپرمی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده کاربامازپین شد. نتایج نشان داد که روغن جوانه‌گندم باعث بهبود عملکرد سیستم تولیدمثلی شده وعوارض کاربامازپین را در حد مطلوب کاهش می‌دهد.

کلمات کلیدی: کاربامازپین، صرع، روغن‌جوانه‌گندم، تستوسترون، پارامترهای اسپرمی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Vida_rahimpur8691@yahoo.com

مقدمه

صرع نوعی اختلال در عملکرد نورون‌های مغز است که به صورت رفتارهای تشنجی دوره‌ای و غیرقابل پیش‌بینی در فرد بروز پیدا می‌کند (Holmes، ۱۹۹۱). حدود یک درصد از کل جمعیت جهان را درگیر کرده است (Arora و همکاران، ۲۰۱۰). تشنج‌های طولانی مدت می‌تواند محتوای گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را در بدن افزایش دهد (Akbas و همکاران، ۲۰۰۵). اختلالات باروری معمولاً در زنان و مردان مبتلا به صرع شایع است (Al Snafi و همکاران، ۲۰۱۳). اختلالات دارای جنبه‌های بیش‌تری، مانند نقص‌های عصبی-روانی و اختلالات غدد درون‌ریز است (Herzog و همکاران، ۱۹۸۲). اختلال عملکرد جنسی شامل کاهش میل جنسی و اختلال در نعوظ در ۵۰-۲۰٪ از مردان مبتلا به صرع ثبت شده است (Al Snafi و همکاران، ۲۰۱۳). بیش از ۹۰٪ از مردان مبتلا به صرع دارای تجزیه و تحلیل اسپرم غیرطبیعی، از جمله تعداد اسپرم کاهش یافته، مورفولوژی غیرطبیعی و اختلال در تحرک هستند (Taneja و همکاران، ۱۹۹۴). بیماری صرع به‌خودی خود ممکن است بر روی غدد درون‌ریز تولیدمثل اثر بگذارد، هم‌چنین مطالعات نشان داده که سطح هورمون‌ها و عملکرد تولیدمثلی در انسان و حیوان پس از تشنج تمپرولیمبک تغییر می‌کند (Edwards و همکاران، ۱۹۹۹).

کاربامازپین (CBZ) دارویی است که در درمان صرع‌های عمومی تونیک-کلونیک، صرع‌های جزئی ساده و چندگانه، دردهای عصبی (عصب سه قلو) و اختلالات روانی مثل بیماری دوقطبی استفاده می‌شود (Al Snafi و همکاران، ۲۰۱۳). از نظر شیمیایی، کاربامازپین، یک ترکیب محلول در چربی خنثی است که به راحتی می‌تواند از سد خونی-مغزی و غشاهایی دیگر در بدن عبور کند (Afshar و همکاران، ۲۰۱۱). داروهای ضدتشنج (AEDs) بر روی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد نیز اثراتی دارند که ممکن است به اختلالات غدد درون‌ریز تولیدمثلی منجر شود (Isojarvi و همکاران، ۱۹۹۳؛ Isojarvi و همکاران، ۱۹۹۱). کمبود آندروژن‌ها، به‌خصوص تستوسترون در بین مردان مبتلا به صرع، عارضه‌ای بسیار شایع است که خود با افزایش فراوانی حملات تشنجی همراه می‌باشد. طبق گزارش بسیاری از پژوهشگران، در مردان مصروع تحت درمان دارویی غلظت تستوسترون آزاد سرم کاهش می‌یابد که در نهایت با بروز نشانه‌های ناتوانی جنسی توام خواهد بود (Backstrom و همکاران، ۱۹۹۰؛ Isojarvi و همکاران، ۱۹۹۰). افزایش دوز کاربامازپین باعث استرس اکسیداتیو می‌شود که از فعالیت همه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی جلوگیری می‌کند. مصرف طولانی‌مدت کاربامازپین باعث عدم تعادل بین سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی و اکسیدانی بدن می‌شود که باعث افزایش قابل توجهی استرس اکسیداتیو می‌شود. کاربامازپین باعث استرس اکسیداتیو از طریق تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌شود. ROS از طریق سوخت و ساز اکسیداتیو بدن تولید و به ماکرومولکول‌های سلولی مانند میتوکندری، شبکه آندوپلاسمی و غیره آسیب‌زده و در نهایت منجر به مرگ سلولی می‌شوند. مالون دی آلدئید محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی و ناشی از تعامل بین ROS و غشای سلولی یا زیر سلولی است (Santhrani و همکاران، ۲۰۱۳)، که به‌عنوان نشان‌گر زیستی حساس برای استرس اکسیداتیو شناخته شده است. لیپیدهای اکسید شده قادر هستند مالون‌دی‌آلدئید را تولید نمایند (Lykkesfeldt، ۲۰۰۷). هم‌چنین یکی از فاکتورهای موثر در نقص عملکرد و کاهش تحرک اسپرم، استرس اکسیداتیو ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال ROS (Reactive Oxygen Species) است. پژوهش‌های فراوانی نشان دادند که ROS احتمالاً با پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع poly UnsaturatedFatty Acid (PUFA) در ناحیه سر و قطعه میانی اسپرم، اکسیداسیون پروتئین و MDA اسپرم و به‌موجب آن تغییر مورفولوژی اسپرم، کاهش تحرک اسپرم در نقص عملکرد اسپرم نقش اساسی دارد (Makker و همکاران، ۲۰۰۹؛ Aitken و همکاران، ۲۰۰۶). بنابراین حمله رادیکال‌های آزاد به اسیدهای چرب غیراشباع غشای پلاسمایی اسپرم و پراکسیداسیون لیپیدی، منجر به کاهش انسجام غشای اسپرم و آسیب DNA اسپرم می‌شود (Ko و Shabanegh، ۲۰۱۴).

اثرات مستقیم احتمالی داروهای ضدتشنج در سلول‌های دودمانه زایا و اسپرم نیز باید در نظر گرفته شود زیرا این داروها بسیار در چربی محلول هستند و در نتیجه فرض می‌شود از سد خونی بیضه‌ای به لوله‌های منی‌ساز عبور می‌کنند (Chen و همکاران، ۱۹۹۲). آسیب بافتی به اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز ناشی از مصرف CBZ قبل از بلوغ شروع شده و تا بلوغ دوام می‌یابد. در جانوران بالغ، این آسیب موجب کاهش در بررسی تولید روزانه اسپرم (DSP) دال بر آسیب به روند اسپرماتوژنز گردید (DeOliva و Miraglia، ۲۰۰۹). مطالعات بالینی و تجربی مختلف مربوط به اثرات کاربامازپین و دیگر داروهای ضدتشنج روی تولیدمثل مردان انجام شده است. آن‌ها به‌طور عمده تغییرات هورمونی و تغییرات منی در مرحله بلوغ، از جمله کاهش تحرک اسپرم، تغییرات مورفولوژیکی اسپرم و کاهش غلظت اسپرم را نشان داده‌اند (Soliman و همکاران، ۱۹۹۹؛ Chen و همکاران،

۱۹۹۲). سلول‌ها چندین روش برای کاهش اثرات استرس اکسیداتیو دارند، سلول‌ها یا آسیب را ترمیم می‌کنند یا به‌طور مستقیم وضعیت پرواکسیداتیو را از طریق آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (پرواکسید دیسموتاز،گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز) و غیر آنزیمی(ویتامین‌های E و C، فلاونوئیدها و غیره) کاهش می‌دهند. آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را پاک‌سازی می‌کنند (El-Hameed و همکاران، ۲۰۱۳).

روغن جوانه گندم، منبع غنی و بسیار خوبی از ویتامین E طبیعی، توکوفرول و اسیدهای چرب غیراشباع، به‌طور عمده اولئیک‌اسید، لینوائیک‌اسید، α-لینولئیک‌اسید و ویتامین‌های A، D، B_1، B_2، B_3 و B_6 می‌باشد (Irmak و Dunford، ۲۰۰۵). روغن جوانه گندم حاوی چندین اسیدچرب اشباع نشده و اشباع شده به‌ترتیب با نرخ ۸۱٪ و ۶۴٪ است (Eisenmenger و Dunford، ۲۰۰۸؛ Zacchi و همکاران، ۲۰۰۶). از این اسیدهای چرب، اسید آلفا لینولنیک، در رابطه با اثر ضدالتهابی آن، باعث کاهش تولید O^{-2} و فعالیت NADPH اکسیداز می‌شود و در نتیجه، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی است (Alessandri و همکاران، ۲۰۱۲). مشخص شده است که ترکیبات فنلی موجود در این روغن هم‌چنین اثر آنتی‌اکسیدانی دارند (Niu و همکاران، ۲۰۱۳). مطالعات نشان می‌دهد که مصرف روغن جوانه گندم به افزایش سریع محتوای ویتامین E در مغز، کبد، قلب، ریه‌ها، کلیه‌ها و طحال می‌شود و حفاظت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی به این اندام‌ها و بافت‌ها می‌دهد (Megahed، ۲۰۱۱). هدف از این مطالعه بررسی سطح تستوسترون سرمی، مالون‌دی‌آلدئید و فاکتورهای اسپرمی در موش‌های صرعی تحت درمان با کاربامازپین و تاثیر یک آنتی‌اکسیدان طبیعی بر عوارض جانبی بیماری صرع و داروی کاربامازپین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع تحقیقی کاربردی می‌باشد که در سال ۱۳۹۲ در خانه حیوانات گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه ارومیه انجام گرفت. در این مطالعه، از موش‌های سوری نر نژاد NMRI در محدوده وزنی ۳۰-۲۵ گرم استفاده شد. موش‌ها تحت شرایط استاندارد، ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی در دمای کنترل شده اتاق (۲±۲۳درجه سانتی‌گراد) نگه‌داری شدند و طی مدت پژوهش به‌طورآزاد به آب وغذا دسترسی داشتند. در این مطالعه کلیه موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی طبق قوانین مصوب کمیته اخلاق در پژوهش‌های پزشکی رعایت شد. حیوانات به‌طور تصادفی در ۶ گروه ۸ تایی قرار گرفتند (جدول ۱).

جدول ۱: گروه‌ها و تیمارهای استفاده شده در این مطالعه

گروه‌ها	تیمار	مدت تیمار (روز)
۱	کنترل دریافت‌کننده سالین، (PO)	۴۲
۲	کنترل صرعی دریافت‌کننده پنتیلن تترازول (PTZ) با دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، (IP)	۴۲
۳	صرعی شده با (PTZ) ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم + کاربامازپین با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، (PO)	۴۲
۴	صرعی شده با (PTZ) ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم + کاربامازپین با دوز ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، (PO)	۴۲
۵	صرعی شده با (PTZ) ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم + کاربامازپین با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، (PO)+روغن جوانه‌گندم با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، (PO)	۴۲
۶	صرعی شده با (PTZ) ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم + کاربامازپین با دوز ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، (PO) + روغن‌جوانه‌گندم با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، (PO)	۴۲

جهت ایجاد کیندلینگ شیمیایی، پنتلین تترازول (سیگمای انگلستان) به‌مقدار ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در نرمال سالین حل شده و به‌روش تزریق داخل صفاقی، هر ۴۸ ساعت یک‌بار و در ۱۳ نوبت به موش‌ها تزریق شد. پاسخ تشنجی حیوان به‌مدت ۲۰ دقیقه مشاهده (Racine و همکاران، ۱۹۷۲)، رفتار تشنجی حاصل از تزریق PTZ براساس معیارهای Becker و همکاران (۱۹۹۲) طبقه‌بندی شد (جدول ۲). تزریق ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پنتلین تترازول باعث القای تشنج گردید، به‌طوری‌که موش‌هایی که فقط PTZ دریافت کرده بودند تمام معیارهای ذکر شده در جدول ۲ را نشان دادند و تا مرحله ۵ پیش رفتند. در این مطالعه فقط از حیوانات کیندلینگ کامل (Full kindle) که در سه تزریق متوالی مراحل چهار و پنج تشنج را نشان دادند، استفاده شد.

جهت کنترل و درمان صرع از کاربامازپین (CBZ) استفاده شد. قبلاً ۳ دوز از CBZ (نوارتیس سوئیس) در موش مطالعه شده بود (۳، ۹، ۱۸ برابر دوز انسانی ۱۰ میلی‌گرم) (Sullivan و McElhatton، ۱۹۷۷) و سپس حداقل (۳۰ میلی‌گرم) و حداکثر (۱۸۰ میلی‌گرم) دوز برای CBZ در موش‌ها انتخاب شد. مقدار دوز برآورد شده در نرمال سالین حل شده و به‌مدت ۴۲ روز به‌صورت گاواژ به موش‌ها داده شد. برای جبران عوارض CBZ از روغن جوانه گندم (گیاه اسانس گرگان) استفاده شد که همراه با کاربامازپین به‌صورت گاواژ و به‌طور خالص به‌مدت ۴۲ روز به موش‌ها داده شد.

جدول ۲: رفتارهای تشنجی حیوان براساس معیار

مرحله‌ها	جزئیات
مرحله ۰	بدون پاسخ
مرحله ۱	انقباض عضلات صورت و گوش‌ها
مرحله ۲	انتشار موج انقباضی به سرتاسر بدن
مرحله ۳	پرش‌های میوکلونیک و ایستادن روی دو پا
مرحله ۴	حملات تونیک-کلونیک و افتادن به پهلو
مرحله ۵	افتادن به پشت و حملات تونیک- کلونیک عمومی

تشریح موش‌های سفید آزمایشگاهی و تهیه اسپرم: در روز ۴۲ آزمایش، در انتهای دوره آزمایش موش‌های صحرایی به‌مدت ۱۲ ساعت از غذا محروم ماندند. جهت بی‌هوشی حیوانات از ۸۰ میلی‌گرم کتامین به‌صورت تزریق استفاده شد. بعد از اطمینان از بی‌هوش بودن حیوانات، قسمت تحتانی شکم آن‌ها توسط برش جراحی شکافته شد و اپیدیدیم و بیضه هر دو قسمت چپ و راست از بدن حیوانات خارج گردید. در مرحله بعد دم اپیدیدیم از سایر قسمت‌ها جدا شده و داخل محیط کشت Nutrient mixature F10 Ham شستشو داده شده تا از خون عاری شوند. بافت اپیدیدیم را در پتری‌دیش حاوی ۱ میلی‌لیتر محیط کشت Human Tubal Fluid با ترکیب ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر Phosphate buffered saline قرار داده شد و توسط قیچی به قطعات کوچک‌تر خرد گردید. بعد از به‌هم زدن لوله در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و Co_2 ۵ درصد به‌مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد. بعد از ۳۰ دقیقه اسپرم‌ها خارج و در محیط پخش شدند. سپس لوله‌ها را به‌هم زده و رقت ۱:۱۰۰ از اسپرم‌هایی که از ناحیه دم اپیدیدیم گرفته شده بودند تهیه و اسپرم‌ها از نظر تعداد، درصد تحرک و درصد قابلیت زیست مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز اسپرم براساس معیار سازمان بهداشت جهانی انجام شد (WHO، ۱۹۹۹).

درصد اسپرم زنده: برای ارزیابی قابلیت زیست اسپرم، ۱۰ میکرولیتر از نمونه اسپرم را با ۱۰ میکرولیتر از محلول ائوزین و نیگروزین به‌طور کامل مخلوط نموده و به فاصله ۱ دقیقه پس از گذاشتن زیر میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۴۰x درصد قابلیت زیست آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت اسپرم‌های زنده بی‌رنگ و اسپرم‌های مرده، رنگ گرفته بودند (Wyrobek و همکاران، ۱۹۸۳).

درصد تحرک اسپرم: ۱۰ میکرولیتر از محلول رقیق شده حاوی اسپرم را روی لام قرار داده و سپس اسپرم‌ها از لحاظ درصد تحرک بررسی شدند. برای به‌دست آوردن درصد تحرک ۱۰ میدان میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۴۰۰x روی لام بررسی شد و سپس میانگین کل اسپرم‌های متحرک در ۱۰ میدان دید میکروسکوپ به‌عنوان درصد تحرک بیان شد (Kilarkaje، ۲۰۰۸).

شمارش اسپرم: جهت شمارش اسپرم از لام نئوبار استفاده شد. بدین‌صورت‌که یک قطره از محلول روی لام ریخته شد و لامل سنگی از قبل بر روی آن قرار داده شده و در زیر میکروسکوپ اسپرم‌ها شمارش گردیدند. جهت اطمینان و کاهش احتمال خطا هر چهار بخش (قسمت ۱۶ خانه‌ای) موجود در روی لام نئوبار شمارش شده و سپس میانگین آن‌ها محاسبه شد و عدد حاصل در عدد 10^6 ضرب گردید تا به‌عنوان تعداد کل اسپرم منظور شود (Kilarkaje، ۲۰۰۸).

سنجش غلظت سرمی تستوسترون: به‌منظور بررسی سطح تستوسترون نمونه‌های خونی از قلب گرفته شد. سپس سانتریفوژ (۳۰۰۰ دور در ۵ دقیقه) شده و نمونه‌های سرمی تهیه شدند و سطح هورمون تستوسترون در سرم با روش رادیوایمنواسی با استفاده از کیت (پیشتاز طب، ایران) و دستگاه Elecsys ۲۰۱۰ به‌روش الکتروکمی لومینسانس انجام گرفت (Jahromy و Moghadam، ۲۰۱۴).

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدی: جهت بررسی آزمایشات بیوشیمیایی حیوانات به‌صورت عمیق بی‌هوش شدند و سپس بافت بیضه آن‌ها جدا و تا زمان انجام آزمایشات در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. در روز آزمایش بافت‌های بیضه در بافر فسفات صفر درجه سانتی‌گراد ۰/۰۵ مولار با PH=۴/۷ و با غلظت ۱۰٪ (W/V) هموژنیزه گردید. سپس محلول‌های حاصل با دور ۱۰۰۰g سانتریفوژ شد و مایع رویی جهت سنجش میزان محصولات پراکسیداسیون لیپیدها مورد استفاده قرار گرفت. سطوح پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) با استفاده از روش Esterbauer و Cheeseman (۱۹۹۰) اندازه‌گیری شد.

درجه پراکسیداسیون لیپیدی بر مبنای تشکیل مالون‌دی‌آلدئید تعیین می‌شود. مالون‌دی‌آلدئید محصول نهایی پراکسیداسیون اسیدچرب است و با تیوباربیتوریک‌اسید وارد واکنش شده و تولید کمپلکس رنگی می‌نماید. اساس روش، اندازه‌گیری اسپکتروفتومتریک رنگ ایجاد شده می‌باشد. بدین منظور ۱۵۰ میکرولیتر از بافت هموژنه به ۳۰۰ میکرولیترتری کلرواستیک اسید (TCA)، ۱۰ درصد اضافه و به‌مدت ۱۰ دقیقه با ۱۰۰۰g دور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. به ۳۰۰ میکرولیتر از مایع رویی، ۳۰۰ میکرولیتر تیوباربیتوریک‌اسید ۰/۶۷ درصد اضافه شد و به‌مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری جوش قرار گرفت. بعد از خنک شدن محلول یک رنگ صورتی ناشی از واکنش MDA-TBA ظاهر می‌شود و جذب محلول صورتی رنگ در طول موج ۵۳۵ نانومتر قرائت شد. میزان مالون‌دی‌آلدئید به کمک ضریب جذبی مالون‌دی‌آلدئید محاسبه و به‌صورت میکرومول بر گرم بافت بیان شد (Esterbauer و Cheeseman، ۱۹۹۰).

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های حاصل با آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل و سپس آزمون توکی برای تعیین گروه‌های دارای اختلاف استفاده شد و سطح معنی‌دار (P<۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

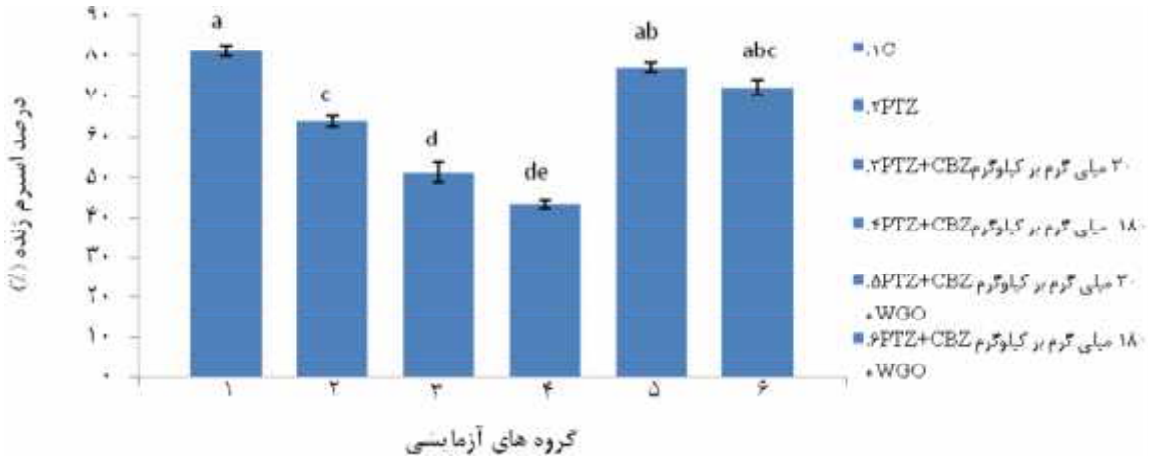
نتایج

آنالیز داده‌های درصد اسپرم‌های زنده نشان داد که میانگین درصد اسپرم‌های زنده در گروه صرعی در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافته بود. گروه‌های صرعی دریافت‌کننده کاربامازپین، کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد و گروه کنترل صرعی نشان دادند. هم‌چنین در گروه‌های صرعی دریافت کننده کاربامازپین و روغن جوانه گندم، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه‌های صرعی دریافت کننده کاربامازپین مشاهده شد (P<۰/۰۵) (شکل ۱).

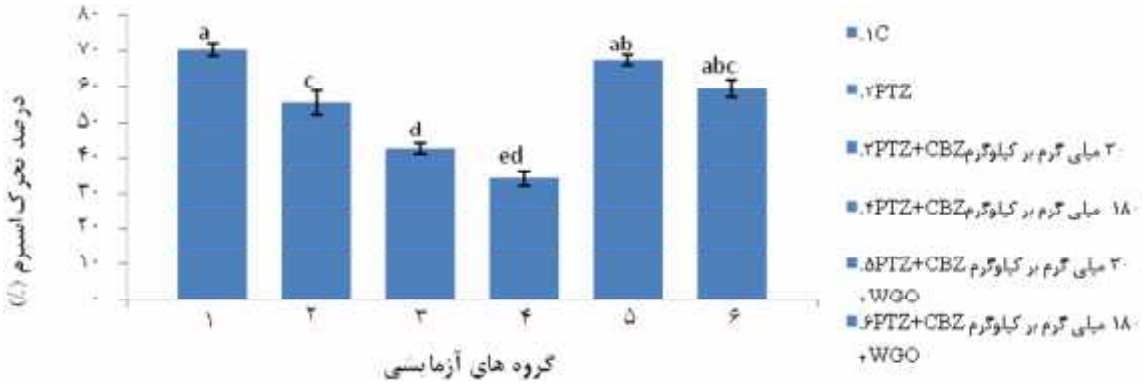
میانگین درصد تحرک اسپرم در گروه شاهد صرعی در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت. از طرفی درصد تحرک اسپرم در گروه‌های صرعی دریافت‌کننده کاربامازپین کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد و گروه شاهد صرعی نشان دادند. علاوه بر آن در گروه‌های صرعی دریافت‌کننده کاربامازپین و روغن جوانه گندم افزایش معنی‌داری نسبت به گروه‌های صرعی دریافت‌کننده کاربامازپین مشاهده شد (P<۰/۰۵) (شکل ۲).

از مقایسه میانگین تعداد اسپرم در گروه شاهد صرعی در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری مشاهده شد. میانگین تعداد اسپرم در گروه‌های صرعی دریافت‌کننده کاربامازپین در مقایسه با گروه شاهد و گروه شاهد صرعی کاهش معنی‌داری را نشان دادند. در گروه‌های صرعی دریافت‌کننده کاربامازپین و روغن جوانه گندم افزایش معنی‌داری نسبت به گروه‌های صرعی دریافت‌کننده کاربامازپین مشاهده شد (P<۰/۰۵) (شکل ۳).

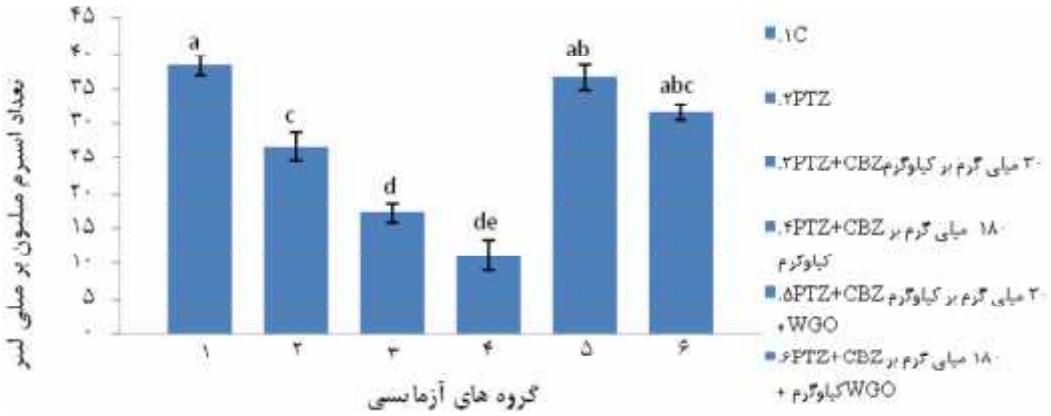
طبق شکل۴، میانگین هورمون تستوسترون در گروه شاهد صرعی در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت و در گروه‌های صرعی دریافت‌کننده کاربامازپین در مقایسه با گروه شاهد، کاهش معنی‌داری مشاهده شد اما فقط گروه صرعی دریافت‌کننده کاربامازپین با دوز ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه شاهد صرعی اختلاف معنی‌داری را نشان داد. هم‌چنین میزان این هورمون در گروه‌های صرعی دریافت‌کننده کاربامازپین به‌همراه روغن جوانه گندم نسبت به گروه‌های صرعی دریافت کننده کاربامازپین افزایش معنی‌داری را نشان دادند. علاوه بر آن گروه صرعی دریافت‌کننده کاربامازپین با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌همراه روغن جوانه گندم با گروه شاهد صرعی اختلاف معنی‌داری را نشان داد اگرچه گروه صرعی دریافت کننده کاربامازپین با دوز ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌همراه روغن جوانه گندم نسبت به کنترل صرعی افزایش یافته بود اما این افزایش معنی‌دار نبود (P<۰/۰۵). میانگین میزان پراکسیداسیون لیپیدی در گروه‌های تحت تیمار و شاهد نشان می‌دهدکه میزان پراکسیداسیون لیپیدی در گروه‌های صرعی دریافت‌کننده کاربامازپین کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت اما فقط در دوز بالای کاربامازپین کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد صرعی مشاهده شد. هم‌چنین میزان پراکسیداسیون لیپیدی در گروه‌های صرعی دریافت‌کننده کاربامازپین به‌همراه روغن جوانه گندم کاهش قابل توجهی مشاهده شد به‌طوری‌که به گروه شاهد نزدیک بود ولی تنها در گروه صرعی دریافت کننده کاربامازپین با دوز پایین به‌همراه روغن جوانه گندم کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد صرعی و گروه دریافت کننده کاربامازپین با دوز پایین مشاهده شد (P<۰/۰۵) (شکل ۵).



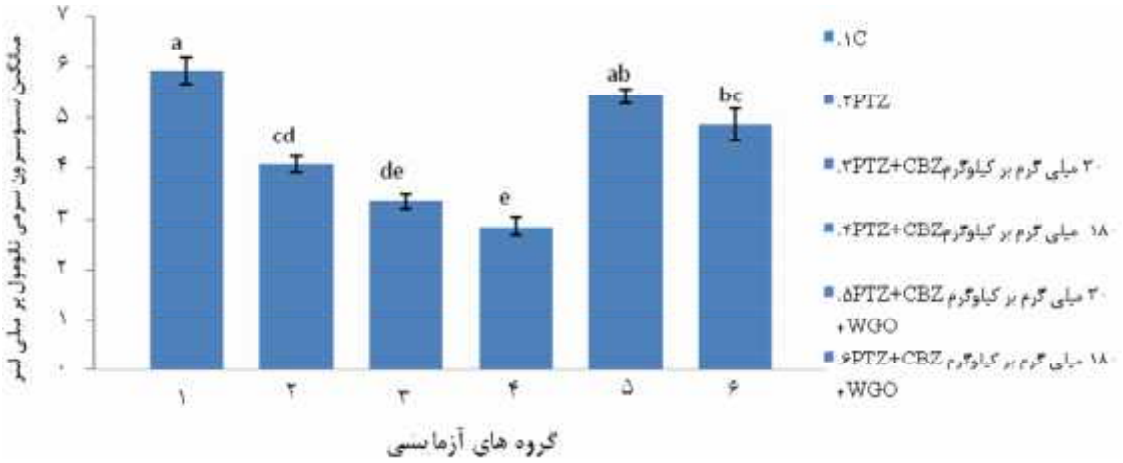
شکل ۱: نمودار میانگین درصد اسپرم زنده در گروه‌های مختلف آزمایشی و گروه شاهد. حروف غیریکسان در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشند. داده‌ها برحسب Mean ± SD نشان داده شده‌اند.C: شاهد، PTZ: پنتیلن تترازول، CBZ: کاربامازپین، WGO: روغن جوانه گندم



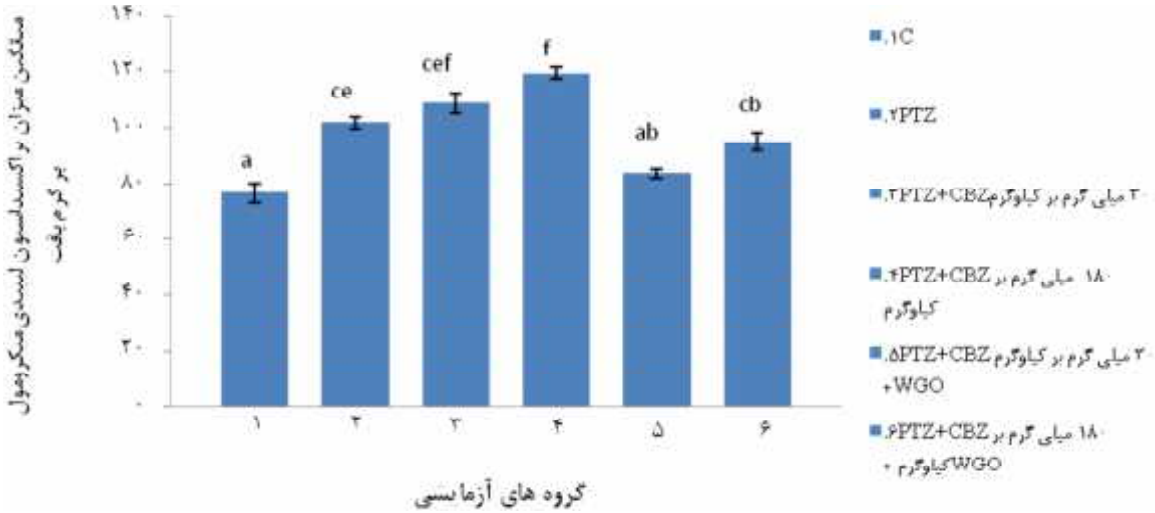
شکل ۲: نمودار میانگین درصد تحرک اسپرم در گروه‌های مختلف آزمایشی و گروه شاهد. حروف غیریکسان در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشند. داده‌ها برحسب Mean ± SD نشان داده شده‌اند.C: کنترل، PTZ: پنتیلن تترازول، CBZ: کاربامازپین، WGO: روغن جوانه گندم



شکل ۳: نمودار میانگین تعداد اسپرم در گروه‌های مختلف آزمایشی و گروه شاهد. حروف غیریکسان در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشند. داده‌ها برحسب Mean ± SD نشان داده شده‌اند. C: کنترل، PTZ: پنتیلن تترازول، CBZ: کاربامازپین، WGO: روغن جوانه گندم



شکل ۴: نمودار میانگین هورمون تستوسترون در گروه‌های مختلف آزمایشی و گروه شاهد. حروف غیر یکسان در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشند.داده‌ها برحسب Mean ± SD نشان داده شده‌اند. C: کنترل، PTZ: پنتیلن تترازول، CBZ: کاربامازپین، WGO: روغن جوانه گندم



شکل۵: نمودار میانگین پراکسیداسیون لیپیدی در گروه‌های مختلف آزمایشی و گروه شاهد. حروف غیریکسان در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) می‌باشند. داده‌ها برحسبMean ± SD نشان داده شده‌اند.C: کنترل، PTZ: پنتیلن تترازول، CBZ: کاربامازپین، WGO: روغن جوانه گندم

بحث

در مطالعه‌ای اثر صرع ناشی از کیندلینگ با پنتلین تترازول بر هورمون‌ها و پارامترهای اسپرمی بررسی شد، نشان داد که صرع القا شده توسط کیندلینگ با PTZ در دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش در غلظت سرمی LH و تستوسترون می‌شود. احتمالاً کاهش LH می‌تواند به‌علت اثرگذاری PTZ بر سلول‌های لوتئوتروپ در بخش قدامی هیپوفیز که مسئول تولید LH هستند، باشد. کاهش LH نیز دارای اثرات کاهشی بر فعالیت سلول‌های لایدیگ بیضه و در نتیجه کاهش ترشح تستوسترون است (Mokhtari و همکاران، ۲۰۰۵).

احتمالاً اختلالات عصبی که منجر به حملات صرعی در سیستم لیمبیک می‌شوند در الگوی ترشح ضربانی GnRH تغییراتی ایجاد می‌کنند که این تغییرات بر ترشح LH و FSH اثر گذاشته و بدین‌وسیله باعث ایجاد اختلالات غدد درون‌ریز می‌شود (Meo و همکاران، ۱۹۹۳). صرع تمپورال خود ممکن است با تغییرات گنادوتروپین و سطح تستوسترون همراه باشد که ممکن است بر کیفیت اسپرم اثر بگذارد و ناهنجاری‌های اسپرم در مردان مبتلا به صرع را توضیح دهد (Stoffel-Wagner و همکاران، ۱۹۹۸؛ Herzog و همکاران، ۱۹۸۶). صرع جزئی و کانونی ممکن است بر مورفولوژی اسپرم اثر بگذارد. علاوه بر این کاربامازپین نیز با کاهش غلظت اسپرم و تحرک ضعیف اسپرم در مردان

صرعی مرتبط است (Isojarvi و همکاران، ۲۰۰۴). یافته‌های این پژوهش نشان داد که صرع با (PTZ) باعث کاهش تستوسترون، تحرک اسپرم و درصد اسپرم زنده می‌شود. در تایید یافته‌های این مطالعه، Roste و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که در بیماران مبتلا به صرع، تحرک اسپرم کاهش می‌یابد و هم‌چنین باعث ایجاد اختلال در سر اسپرم می‌شود. علاوه بر این Taneja و همکاران (۱۹۹۴) گزارش دادند که باروری در مردان مبتلا به صرع کاهش می‌یابد. Rodrigues و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که PTZ باعث تولید انواع فرآیندهای بیوشیمیایی ازجمله پروتئولیز و انتشار ROS مانند سوپراکسید و NO می‌شود که می‌تواند به چربی‌ها و پروتئین آسیب بزند و منجر به کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانی شود.

مطالعات دیگر نشان دادند که میزان پراکسیداسیون‌های لیپیدی مانند مالون‌دی‌آلدئید ((Malondialdehyde (MDA) در نمونه خونی افراد مصروع نسبت به افراد گروه شاهد افزایش می‌یابد، که با نتایج به‌دست آمده از این پژوهش که نشان‌دهنده افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید در بافت بیضه می‌باشد، مطابقت دارد (Turkdogan و همکاران، ۲۰۰۲).

در تحقیق حاضر نشان داده شده که درمان با کاربامازپین به‌ویژه در دوز بالا موجب کاهش سطح هورمون تستوسترون می‌شود. نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های Leskiewicz و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت دارد به‌طوری‌که نشان دادند هم تشنج و هم داروهای ضدتشنج احتمال دارد اختلالاتی را در سیستم هورمونی القا کنند. اکثر داروهای ضدصرع، کانال‌های کلسیم و سدیم وابسته به ولتاژ را متوقف و گیرنده‌های آنتاگونیک گلوتامات و انتقالات گابائرژیک را تقویت می‌کنند. با این حال بعضی از داروهای ضدصرع ممکن است بر متابولیسم هورمون‌ها از طریق مهار یا تحریک ایزوآنزیم سیتوکروم P۴۵۰ تاثیر بگذارند (Leskiewicz و همکاران، ۲۰۰۸).

داروهای ضدتشنج القاکننده آنزیم‌های کبدی مانند کاربامازپین (CBZ) و فنی‌توئین (PHT) با افزایش سطح گلوبولین متصل شونده به هورمون‌های جنسی (SHBG) و کاهش مقدار آندروژن آزاد در دسترس بافت مرتبط هستند (Isojarvi و همکاران، ۱۹۹۱؛ Isojarvi و همکاران، ۱۹۹۰). Herzog و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که داروهای ضدتشنج القاکننده آنزیم مانند فنوباربیتال، کاربامازپین و فنوتوئین باعث افزایش سطح گلوبولین متصل شونده به هورمون‌های جنسی SHBG و در نتیجه موجب تحریک آنزیم آروماتاز و سیتوکروم P۴۵۰ شده و باعث کاهش سطح تستوسترون فعال زیستی می‌شود.

باتوجه به مطالعات انجام شده مصرف کاربامازپین باعث استرس اکسیداتیو از طریق تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌شود (De Oliva و Miraglia، ۲۰۰۹) و در پی آن افزایش مالون‌دی‌آلدئید که فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدی توسط گونه‌های اکسیژن فعال ROS است (Pascoe و همکاران، ۱۹۸۷) می‌توان به این نتیجه رسید که تولید ROS باعث توقف سیکل سلولی و افزایش فرآیند آپوپتوز می‌شود که بدین ترتیب باعث کاهش تولید روزانه اسپرم و هم‌چنین کاهش تعداد کلی اسپرم می‌شود (Fukushima و همکاران، ۲۰۰۷؛ Kobayashi و همکاران، ۲۰۰۱؛ George و همکاران، ۱۹۸۶). مطالعات Kobayashi و همکاران (۲۰۰۱) نشان داد که یک کاهش مستمر در تعداد سلول‌های اسپرم زنده و فعال در ارتباط با افزایش مقدار ROS وجود دارد. هم‌چنین در مطالعات دیگر مشخص شد که تولید ROS باعث کاهش کمیت و کیفیت مایع منی (Fukushima و همکاران، ۲۰۰۷) و با افزایش دادن نفوذ پذیری سلولی باعث از دست رفتن حیات اسپرم می‌شود (Chitra و همکاران، ۲۰۰۳؛ Fujii و همکاران، ۲۰۰۳). مطالعات Cao و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که با افزایش استرس اکسیداتیو، سطح آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی مهم در سلول‌های لایدیگ کاهش می‌یابد و باعث کاهش سنتز و ترشح تستوسترون می‌شود و عامل موثری جهت اختلال در اسپرمیوژنز و به تبع آن کاهش معنی‌دار در تعداد اسپرم‌های اپیدیدیمی می‌باشد. کاربامازپین با تغییرات در کیفیت منی همراه است و هم‌چنین مطالعات اخیر نشان داده‌اند که کاربامازپین با کاهش تحرک اسپرم و افزایش فراوانی اسپرم با مورفولوژی غیرطبیعی در مردان همراه است (Chen و همکاران، ۱۹۹۲).

قرارگیری تمام سلول‌ها در معرض گونه‌های آزاد اکسیژن (ROS) امری بسیار طبیعی می‌باشد، اما زمانی‌که سطح ROS افزایش پیداکند و منجر به عدم تعادل در میزان اکسیدانت‌ها در مقابل آنتی‌اکسیدانت‌ها شود، استرس اکسیداتیو ایجاد می‌گردد (Said و همکاران ۲۰۰۴). کاربامازپین به‌دلیل محلول بودن در چربی به‌راحتی از سطح غشاهای زیستی عبور می‌کند (Afshar و همکاران، ۲۰۱۱)، بنابراین غشای فسفولیپیدی اسپرم تحت تنش ROS قرار گرفته و پراکسیداسیون لیپیدی ایجاد می‌گردد (Nabela و همکاران، ۲۰۱۰). سنجش میزان تولید مالون دی آلدئید (MDA) به‌عنوان یک تست تشخیصی در رخ دادن پراکسیداسیون لیپیدی در نظر گرفته می‌شود و نتایج حاصل از تحقیق ما این نکته را به خوبی نشان می‌دهد که تجویز

کاربامازپین با افزایش دوز مصرفی، منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی می‌گردد.

افزایش تولید مالون‌دی‌آلدئید (MDA) باعث برهم خوردن سیالیت غشای اسپرم و در نتیجه به‌عنوان یک عامل تهدید کننده در باروری محسوب می‌گردد (Evenson و همکاران ۲۰۰۰). در این راستا، مشاهدات قبلی نشان داده‌اند که پراکسیداسیون لیپیدی حاصل از استرس اکسیداتیو موجب از دست رفتن سریع ATP داخل سلولی و بنابراین کاهش حرکات و قابلیت حیات اسپرم می‌شود (Bansal و Bilaspuri، ۲۰۱۰). هم‌چنین تغییرات ناشی از پراکسیداسیون اجزاء غشاء اسپرم‌ها منجر به کاهش فعالیت پمپ Na+/K+-ATPase و در نهایت افت شدید در قدرت تحرک سلول‌های اسپرم می‌شود. به‌دنبال اختلال در فرایندهای تبادل یونی غشاء و آنزیم‌های دخیل در آن، در اثر تغییر تراوائی غشا، از میزان فعالیت و تحرک سلول‌های اسپرم کاسته می‌شود (Woo و همکاران، ۲۰۰۰؛ Verma و Kanwar، ۱۹۹۹)، که پژوهش حاضر مطابق با یافته‌های قبلی می‌باشد.

استفاده از روغن جوانه گندم همراه با کاربامازپین موجب یک افزایش معنی‌دار در سطح سرمی تستوسترون، تحرک اسپرم، درصد اسپرم زنده، تعداد اسپرم و کاهش میزان مالون دی‌آلدئید نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده کاربامازپین شده و مقادیر به دست آمده نزدیک به گروه شاهد می‌باشد و این می‌تواند به این دلیل باشد که روغن جوانه‌گندم دارای بالاترین محتوای توکوفرول در بین همه سبزیجات و روغن‌ها، به‌ویژه بالاترین محتوای آلفا توکوفرول (ویتامین E) که نشان‌دهنده ۶۰٪ از محتوای کل می‌باشد. ویتامین E یک ماده آنتی‌اکسیدانی قوی است که از بافت‌ها در برابر استرس اکسیداتیو به‌وسیله مهار مستقیم رادیکال‌های سمی محافظت می‌کند (El-Marasy و همکاران، ۲۰۱۲). ویتامین E یا آلفاتوکوفرول به‌علت حلالیت در چربی می‌تواند مانع از اثرات تخریبی ROS بر روی پارامترهای اسپرم شود (Aitken و همکاران، ۱۹۹۴). چون یک مولکول توکوفرول به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان شکننده زنجیر می‌تواند دو رادیکال پروکسیل لیپید و در نتیجه دو واکنش بالقوه زنجیره‌های پراکسیداسیون را مهار کند (John و همکاران، ۲۰۰۱؛ Wolf و همکاران، ۱۹۹۸). هم‌چنین نتایج دیگر نیز نشان می‌دهد که آلفاتوکوفرول باعث تحرک و افزایش زنده ماندن اسپرم می‌شود علاوه بر این اثرات این ماده نسبت به غلظت آن متفاوت است به‌طوری‌که غلظت بالای آلفاتوکوفرول اثرات اکسیداتیو دارد درصورتی‌که غلظت‌های پایین آن دارای اثرات آنتی‌اکسیداتیو می‌باشد (Brezezinska-Slebodzinska و همکاران، ۱۹۹۵). کمبود ویتامین E منجر به واکنش‌های استرس اکسیداتیو در بافت بیضه و در نتیجه کاهش در سنتز تستوسترون و اسپرماتوژنز می‌گردد (Aziz و همکاران، ۲۰۰۴). هم‌چنین با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش تولید ROS (Aitken و Clarkson، ۱۹۸۷) حذف رادیکال‌های پروکسیل (RO•) و آلکواکسیل (ROO•) (Zhou و همکاران، ۲۰۰۶)، اپیدیدیم را در برابر پراکسیداسیون لیپیدها محافظت می‌کند و از این طریق باعث افزایش باروری می‌شود. ویتامین E پراکسیداسیون چربی‌ها را در میتوکندری و میکروزوم بیضه مهار کرده (Gavazza و Catala، ۲۰۰۶؛ Lucesoli و Fraga، ۱۹۹۹) اثرات مخرب استرس اکسیداتیو ناشی از عوامل استرس‌زا را کاهش می‌دهد این آنتی‌اکسیدان با افزایش کیفیت اسپرم، باعث بهبود پارامترهای مختلف باروری می‌شوند (Zhou و همکاران، ۲۰۰۶؛ Senthil kumar و همکاران، ۲۰۰۴). Zhu و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که ویتامین E از سمیت، تغییرات هورمونی والتهابی بافت‌های تناسلی جلوگیری می‌کند. Fattah و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند روغن جوانه گندم فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته موش‌ها را تقویت و پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش می دهد که باعث حفاظت در برابر استرس اکسیداتیو شده و ممکن است یکپارچگی اعمال بافت کبد را حفظ و اختلالات سوخت و ساز بدن را به حداقل برساند. هم‌چنین در اثبات نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داده شده مصرف روغن جوانه گندم که حاوی ویتامین E، ترکیبات فنلی و کاروتنوئیدها است به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی عمل می‌کند و رادیکال‌های آزاد در غشاهای سلولی را جاروب کرده و از پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلول محافظت می‌کند (El-Hameed و همکاران، ۲۰۱۳؛ Fattah و همکاران، ۲۰۱۱). ویتامین E که امروزه نقش آنتی‌اکسیدانی آن اثبات شده، به مهار آسیب رادیکال‌های آزاد در غشاء حساس بیضه و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در بافت به وسیله مالون‌دی‌آلدئید کمک می‌کند، بنابراین ویتامین E به‌میزان قابل توجهی مالون‌دی‌آلدئید را کاهش داده و سطح گلوتاتیون را افزایش می‌دهد (Ebisch و همکاران، ۲۰۰۶).

از این پژوهش این‌طور می‌توان نتیجه گرفت که روغن جوانه گندم به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی که منبع غنی از ویتامین E می‌باشد، اثرات مفیدی در پیشگیری از تغییرات ایجاد شده در سطح تستوسترون سرمی، پراکسیداسیون لیپیدی و

پارامترهای اسپرمی در جریان بیماری صرع و مصرف داروی ضدصرع کاربامازپین داشته باشد، بنابراین روغن‌جوانه گندم به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان با مهار رادیکال‌های آزاد از تغییرات ایجاد شده که موجب نقص در سیستم تولیدمثلی می‌شود، جلوگیری کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه بوده و کد ثبت پروپوزال آن ۵۸۴/رد/۲ می‌باشد. بدین‌وسیله از سرکارخانم الهام احمدی به‌دلیل همکاری در این مقاله تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. **Afshar, M.; Moallem, S.A.; Baharara, J.; Takjo, T. and Golalipour, M.J., 2011**. Preventive Effect of Vitamin B6 on Developmental Toxicity of Carbamazepine in Mice. IJBMS. Vol. 14, No. 2, pp: 99-106.
2. **Aitken, R.J. and Clarkson, J.S., 1987.** Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. J Reprod Fertil. Vol. 81, No. 2, pp: 459-469.
3. **Aitken, R.J.; Wingate, J.K.; De Iuliis, G.N.; Koppers, A.J. and McLaughlin, E.A., 2006.**Cis-unsaturated fatty acids stimulate reactive oxygen species generation and lipid peroxidation in human spermatozoa. J Clin Endocrinol Metab. Vol. 91, No. 10, pp: 4154-4163.
4. **Akbas, S.H.; Yegin, A. and Ozben, T., 2005.** Effect of pentylenetetrazol-induced epileptic seizure on the antioxidant enzyme activities, glutathione and lipid peroxidation levels in rat erythrocytes and liver tissues. Clin Biochem. Vol. 38, No. 11, pp: 1009-1014.
5. **Al Snafi, A.E.; Al Salih, R.M. and Abbas, A.M., 2013.** Endocrine Reproductive Effects of Antiepileptic Drugs in Male Rats. GJP. Vol. 7, No. 1, pp: 95-98.
6. **Alessandri, J.M.; Extier, A.; Al-Gubory, K.H.; Harbeby, E.; Lallemand, M.S. and Linard, A., 2012.** Influence of gender on DHA synthesis: The response of rat liver to low dietary a-linolenic acid evidences higher o3 D4- desaturation index in females. Eur.J.Nutr. Vol. 51, No. 2, pp: 199-209.
7. **Arora, T.; Mehta, A.K.; Sharma, K.K.; Mediratta, P.K.; Banerjee, B.D. and Garg, G.R., 2010.**Effect of carbamazepine and lamotrigine on cognitive function and oxidative stress in brain during chemical epileptogenesis in rats. Basic Clin Pharmacol Toxicol. Vol. 106, No. 5, pp: 372-377.
8. **Aziz, N.; Saleh, R.A.; Sharma, R.K.; Lewis-Jones, I.; Esfandiari, N. and Thomas, A.J., 2004.** Novel association between sperm reactive oxygen species production, sperm morphological defects, and the sperm deformity index. Fertil Steril. Vol. 81, No. 2, pp: 349-354.
9. **Backstrom, T.; Gee, K.W.; Lan, N.; Sorensen, M. and Wahlstrom, G., 1990.** Steroids in relation to epilepsy and anaesthesia. Ciba Found Symp. Vol. 153, pp: 225-230
10. **Bansal, A.K. and Bilaspuri, G.S., 2010.** Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. Vet Med Int. Vol. 2011, pp: 7.
11. **Becker, A.; Grecksch, G.; Ruthrich, H.L.; Pohle, W.; Marx, B. and Matthies, H., 1992.** Kindling and its consequences on learning in rats. Behav Neural Biol. Vol. 57, No. 1, pp: 37-43
12. **Brezezinska-Slebodzinska, E.; Slebodzinski, A.B.; Pietras, B. and Wieczorek, G., 1995.** Antioxidant effect of vitamin E and glutathione on lipid peroxidation in boar semen plasma. Biol Trace Elem Res. Vol. 47, No. 1-3, pp: 69-74.
13. **Cao, L.; Leers-Sucheta, S. and Azhar, S., 2004.** Aging alters the functional expression of enzymatic and non-enzymatic anti-oxidant defense systems in testicular rat Leydig cells. J Steroid Biochem Mol Biol. Vol. 88, No. 1, pp: 61-67.
14. **Chen, S.S.; Shen, M.R.; Chen, T.J. and Lai, S.L., 1992.** Effects of antiepileptic drugs on sperm motility of normal controls and epileptic patients with long-term therapy. Epilepsia. Vol. 33, No. 1, pp: 149-153.
15. **Chitra, K.C.; Latchoumycandane, C. and Mathur, P.P., 2003.** Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. Toxicology. Vol. 185, No. 1, pp: 119-127.
16. **De Oliva, S.U. and Miraglia, S.M., 2009.** Carbamazepine damage to rat spermatogenesis in different sexual developmental phases. Int J Androl. Vol. 32, No. 5, pp: 563-574.
17. **Ebisch, I.M.; Pierik, F.H.; Thomas, C.M. and Steegers Theunissen, R.P., 2006.** Does folic acid and zinc sulphate intervention affect endocrine parameters and sperm characteristics in men? Int J Androl. Vol. 29, No. 2, pp: 339-345.
18. **Edwards, H.E.; Burnham, W.M.; Mendonca, A.; Bowlby, D.A. and MacLusky, N.J., 1999.** Steroid hormones affect limbic after discharge thresholds and kindling rates in adult female rats. Brain Res. Vol. 838, No. 1, pp: 136-150.
19. **Eisenmenger, M. and Dunf**ord, **N.T., 2008.** Bioactive components of commercial and supercritical carbon dioxide processed wheat germ oil. J Am Oil Chem Soc. Vol. 85, No. 1, pp: 55-61.
20. **El-Hameed, A.M.A.; Soliman, H.A. and El-Reheem, E.S.A., 2013.** Protective Role of Wheat Germ Oil in Clozapine-Induced Oxidative Stress and Biochemical Alterations in Liver of male albino rats. J Am Sci. Vol. 9, No. 1, pp: 268-274.
21. **El-Marasy, S.A.; El-Shenawy, S.M.; El-Khatib, A.S.; El-Shabrawy, O.A. and Kenawy, S.A. , 2012.** Effect of *Nigella sativa* and wheat germ oils on scopolamine induced memory impairment in rats. B-FOPCU. Vol. 50, No. 2, pp: 81-88.
22. **Esterbauer, H. and Cheeseman, K.H., 1990.** Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. Methods Enzymol. Vol. 186, pp: 407-421.
23. **Evenson, D.P.; Jost, L.K.; Corzett, M. and Balhorn, R., 2000.** Characteristics of human sperm chromatin structure following an episode of influenza and high fever: a case study. J Androl. Vol. 21, No. 5, pp: 739-746.
24. **Fattah, S.A.; Fahim, T.M. and El-Fatih, N., 2011.** Prophylactic role of combined treatment with wheat

germ oil and ginseng against radiation injury in male rats. EJHM. Vol. 45, No. 403, pp: 415.

25. **Fujii, J.; Iuchi, Y.; Matsuki, S. and Ishii, T., 2003.** Cooperative function of antioxidant and redox systems against oxidative stress in male reproductive tissues. Asian J Androl. Vol. 5, No. 3, pp: 231-242.

26. **Fukushima, T.; Hamada, Y.; Komiyama, M.; Matsuno, Y.; Mori, C. and Horii, I., 2007**. Early changes in sperm motility, acrosome reaction, and gene expression of reproductive organs in rats treated with sulfasalazine. Rep. Toxicol. Vol. 23. No. 2, pp: 153-157.

27. **Gavazza, M.B. and Catala, A., 2006.** The effect of alpha-tocopherol on lipid peroxidation of microsomes and mitochondria from rat testis. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. Vol. 74, No. 4, pp: 247-254.

28. **George, F.W.; Johnson, L. and Wilson, J.D., 1989.** The effect of a 5 alpha-reductase inhibitor on androgen physiology in the immature male rat. Endocrinology. Vol. 125, No. 5, pp: 2434-2438.

29. **Herzog, A.G., 2008.** Disorders of reproduction in patients with epilepsy: primary neurological mechanisms. Seizure. Vol. 17, No. 2, pp: 101-110.

30. **Herzog, A.G.; Seibel, M.M.; Schomer, D.L.; Vaitukaitis, J.L. and Geschwind, N., 1986.** Reproductive endocrine disorders in men with partial seizures of temporal lobe origin. Arch Neurol. Vol. 43, No. 4, pp: 347-350.

31. **Herzog, A.G.; Russell, V.; Vaitukaitis, J.L. and Geschwind, N., 1982.** Neuroendocrine dysfunction in temporal lobe epilepsy. Arch Neurol. Vol. 39, No. 3, pp: 133-135.

32. **Holmes, G.L., 1991.** The long-term effects of seizures on the developing brain: clinical and laboratory issues. Brain Dev. Vol. 13, No. 6, pp: 393-409.

33. **Irmak, S. and Dunford, N.T., 2005.** Policosanol contents and compositions of wheat varieties . J Agric Food Chem. Vol. 53, No. 14, pp: 5583-5586

34. **Isojarvi, J.I.; Laatikainen, T.J.; Pakarinen, A.J.; Juntunen, K.T. and Myllyla, V.V., 1993.** Polycystic ovaries and hyperandrogenism in women taking valproate for epilepsy. N Engl J Med. Vol. 329, No. 19, pp: 1383-1388.

35. **Isojarvi, J.I.; Lofgren, E.; Juntunen, K.S.; Pakarinen, A.J.; Paivansalo, M. and Rautakorpi, I., 2004.** Effect of epilepsy and antiepileptic drugs on male reproductive health. Neurology. Vol. 62, No. 2, pp: 247-253.

36. **Isojarvi, J.I.; Pakarinen, A.J. and Myllyla, V.V., 1991.** A prospective study of serum sex hormones during carbamazepine therapy. Epilepsy Res. Vol. 9, No. 2, pp: 139-144.

37. **Isojarvi, J.I.; Pakarinen, A.J.; Ylipalosaari, P.J. and Myllyla, V.V., 1990.** Serum hormones in male epileptic patients receiving anticonvulsant medication. Arch Neurol. Vol. 47, No. 6, pp: 670-676.

38. **Jahromy, M.H. and Moghadam, A.A., 2014.** Effects of Sertraline on Sperm Motility, Number and Viability and Its Relation to Blood Levels of Testosterone, FSH and LH in Adult Male Mice. ASM. pp: 17-24.

39. **John, S.; Kale, M.; Rathore, N. and Bhatnagar, D., 2001.** Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. J Nutr Biochem. Vol. 12, No. 9, pp: 500-504.

40. **Kilarkaje, N., 2008.** A purine nucleoside analogue-acyclovir [9-(2-hydroxymthyl)-9h guanine] reversibly impairs testicular function in mouse. The journal of toxicological sciences. J Toxicol Sci. Vol. 33, No. 1, pp: 61-70.

41. **Ko, E.Y. and Sabanegh, E.S., 2014.** The role of nutraceuticals in male fertility. Urol Clin North Am. Vol. 41, No. 1, pp: 181-193.

42. **Kobayashi, H.; Gil-Guzman, E.; Mahran, A.M.; Rakesh, N.D.R. and Thomas, A.J., 2001.** Quality control of reactive oxygen species measurement by luminol-dependent chemiluminescence assay. J Androl. Vol. 22, No. 4, pp: 568-574.

43. **Leskiewicz, M.; Budziszewska, B. and Lason, W., 2008.** Endocrine effects of antiepileptic drugs. Przegl Lek. Vol. 65, No. 11, pp: 795-798

44. **Lucesoli, F. and Fraga, C.G., 1999.** Oxidative stress in testes of rats subjected to chronic iron intoxication and alpha-tocopherol supplementation. Toxicology. Vol. 132, No. 2-3, pp: 179-186.

45. **Lykkesfeldt, J., 2007.** Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. Clin Chim Acta. Vol. 380, No. 1, pp: 50-58.

46. **Makker, K.; Agarwal, A. and Sharma, R., 2009.** Oxidative stress and male infertility. Indian J Med Res. Vol. 129, No. 4, pp: 357-367.

47. **Megahed, M.G., 2011.** Study on stability of wheat germ oil and lipase activity of wheat germ during periodical storage. ABJNA. Vol. 1, pp: 163-168.

48. **Meo, R.; Bilo, L.; Nappi, C.; Tommaselli, A.P.; Valentino, R. and Nocerino, C., 1993.** Derangement of the hypothalamic GnRH pulse generator in women with epilepsy. Seizure. Vol. 2, No. 3, pp: 241-252.

49. **Mokhtari, M.; Fesharaki, M. and Makarian, N., 2005.** Effect of selegiline on pituitary-gonad axis and spermatogenesis in adult male rats. Scientific J Hamadan University Medical Sciences. Vol. 35, No. 1, pp: 58-62.

50. **Nable, I.; Sharkawy, E.L.; Salah, M.; Hamza, E. and Abou-zeid, H., 2010.** Toxic impact of Titanium Dioxide in male Albino Rats whit special refrence to its effect on reproductive system. J Am Sci. Vol. 6, No. 11, pp: 865-872.

51. **Niu, L.Y.; Jiang, S.T. and Pan, L.J., 2013.** Preparation and evaluation of antioxidant activities of peptides obtained from defatted wheat germ by fermentation. J Food Sci Technol. Vol. 50, No. 1, pp: 53-61.

52. **Pascoe, G.A.; Olafsdottir, K. and Reed, D.J., 1987.** Vitamin E protection against chemical-induced cell injury. I. Maintenance of cellular protein thiols as a cytoprotective mechanism. Arch Biochem Biophys. Vol. 256, No. 1, pp: 150-158.

53. **Racine, R.J., 1972.** Modification of seizure activity by electrical stimulation: II Motor seizure. Electroencephalogr Clin Neurophysiol. Vol. 32, No. 3, pp: 281-294.

54. **Rodrigues, A.D.; Scheffel, T.B.; Scola, G.; Dos Santos, M.T.; Fank, B. and Dani, C., 2013.** Purple grape juices prevent pentylenetetrazol-induced oxidative damage in the liver and serum of Wistar rats. Nutr Res. Vol. 33, No. 2, pp: 120-125

55. **Roste, L.S.; Tauboll, E.; Haugen, T.B.; Bjornenak, T.; Saetre, E.R. and Gjerstad, L., 2003.** Alterations in semen parameters in men with epilepsy treated with valproate or carbamazepine monotherapy. Eur J Neurol. Vol. 10, No. 5, pp: 501-506.

56. **Said, T.M.; Paasch, U.; Glander, H.J. and Agarwal, A., 2004.** Role of Caspases in male infertility. Hum Reprod Update. Vol. 10, No. 1, pp: 39-51.

57. **Santhrani, T.; Maheswari, E. and Saraswathy, G.R., 2013.** Carbamazepine provoked hepatotoxicity: Attenuation by vitamin C. Oxid Antioxid Med Sci. Vol. 2, No. 1, pp: 37-43.

58. **Senthil kumar, J.; Banudevi, S.; Sharmila, M.; Murugesan, P.; Srinivasan, N. and Balasubramanian, K., 2004.** Effects of Vitamin C and E on PCB (Aroclor 1254) induced oxidative stress, androgen binding protein and lactate in rat Sertoli cells. Reprod Toxicol. Vol. 19, No. 2, pp: 201-208.

59. **Soliman, G.A. and Abla, A.M., 1999.** Effects of antiepileptic drugs carbamazepine and sodium valproate on fertility of male rats. Dtsch Tierärztl Wschr. Vol. 106, No. 3, pp: 110-113.

60. **Stoffel-Wagner, B.; Bauer, J.; Flugel, D.; Brennemann, W.; Klingmuller, D. and Elger, C.E., 1998.** Serum sex hormones are altered in patients with chronic temporal lobe epilepsy receiving anticonvulsant medication. Epilepsia. Vol. 39, No. 11, pp: 1164-1173.

61. **Sullivan, F.M. and McElhatton, P.R., 1977.** A comparison of the teratogenic activity of the antiepileptic drugs carbamazepine, clonazepam, ethosuximide, phenobarbital, phenytoin, and primidone in mice. Toxicol Apply Pharmacol. Vol. 40, No. 2, pp: 365-378.

62. **Taneja, N.; Kucheria, K.; Jain, S. and Maheshwari, M.C., 1994.** Effect of phenytoin on semen. Epilepsia. Vol. 35, No. 1, pp: 136-140.

63. **Turkdogan, D.; Toplan, S. and Karakoc, Y., 2002.** Lipid peroxidation and antioxidative enzyme activities in childhood epilepsy. J Child Neurol. Vol. 17, No. 9, pp: 673-676.

64. **Verma, A. and Kanwar, K.C., 1999.** Effect of vitamin E on human sperm motility and lipid peroxidation in vitro. Asian J Androl. Vol. 1, No. 3, pp: 151-154.

65. **Wolf, R.; Wolf, D. and Ruocco, V., 1998.** Vitamin E: the radical protector. J Eur Acad Dermatol Venereol. Vol. 10, No. 2, pp: 103-117.

66. **Woo, A.L.; James, P.F. and Lingrel, J.B., 2000.** Sperm motility is dependent on a unique isoform of the Na,K-ATPase. J Biol Chem. Vol. 275, No. 27, pp: 20693-20699.

67. **World Health Organization. 1999.** WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction.Cambridge university press.

68. **Wyrobek, A.J.; Gordon, L.A.; Burkhart, J.G.; Francis, M.W.; Kapp, R.W. and Letz, G., 1983.** An evaluation of the mouse sperm morphology test and other sperm tests in nonhuman mammals. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. Mutat Res. Vol. 115, No. 1, pp: 1-72.

69. **Zacchi, P.; Daghero, J.; Jaeger, P. and Eggers, R., 2006.** Extraction/fractionation and deacidification of wheat germ oil using supercritical carbon dioxide. Braz J Chem Eng. Vol. 23, No. 1, pp: 105-110.

70. **Zhou, D.X.; Qiu, S.D.; Zhang, J.; Tian, H. and Wang, H.X., 2006.** The protective effect of vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in the testes of adult rats. Asian J Androl. Vol. 8, No. 5, pp: 584-588.

71. **Zhu, Q.; Emanuele, M.A.; LaPaglia, N.; Kovacs, E.J. and Emanuele, N.V., 2007.** Vitamin E prevents ethanol-induced inflammatory, hormonal, and cytotoxic changes in reproductive tissues. Endocrine. Vol. 32, No. 1, pp: 59-68.